抗体药物偶联物及其制备方法和用途

技术领域

本披露属于医药技术领域，涉及多种抗体，抗体药物偶联物及其制备方法，以及其在预防和/或治疗与细胞活动异常相关的疾病，包括但不限于在预防和/或治疗肿瘤疾病中的用途。

背景技术

在正常的生理条件下，血管生成处于动态的调节平衡过程中，严格受到一系列因素的复杂相互作用的控制，这些因素在胚胎发育中对新生血管生成起着至关重要的作用。然而，肿瘤可以激活“血管生成开关”，破坏血管生成的动态平衡，形成具有异常结构和功能的肿瘤血管，加速肿瘤发生、生长和转移。抗肿瘤血管生成和血管规范化疗法已经成为肿瘤治疗的里程碑性新策略。

贝伐珠单抗(商品名：Avastin)是一种人源化的单克隆 IgG1 抗体，结合到 VEGF-A 上，阻断 VEGF/VEGFR 信号通路，从而抑制血管生成并诱导肿瘤血管退行。此外，小剂量的贝伐珠单抗可以引起肿瘤血管的短暂正常化阶段。目前，贝伐珠单抗已经获得批准，可以与化疗联合用于包括结直肠癌(CRC)、非小细胞肺癌(NSCLC)等广泛的实体肿瘤类型治疗。然而，化疗药物的非靶向作用会导致全身毒性和药物耐药性增加，增加患者在治疗过程中的痛苦，并严重限制单克隆抗体/化疗药物组合的临床应用。因此，迫切需要找到一种能够突破药物组合限制的治疗选择。

ADC 是抗体和小分子药物的偶联体，融合了抗体的靶向作用和生物活性分子的活性，成为一种生物导弹，具有非常可期待的疗效和安全性优势。抗体引导 ADC 结合到靶细胞，随后被细胞内化，小分子药物在细胞内通过特定酶作用下发生的酶解释放，治疗疾病。ADC 药物近几年发展非常迅速，已经上市的 ADC 有 17 种。然而，已有的上市 ADCs 是通过 ADC 中的抗体结合肿瘤细胞表面抗原，然后通过细胞内吞后将毒素从 ADC 上裂解下来，产生杀伤活性。但针对游离抗原的靶点 ADC 不同于传统内吞的 ADC，针对游离抗原靶点 ADC 开发非常具有挑战。对于游离抗原 VEGF 而言，如果能针对游离的 VEGF 开发出 ADC，可以为肿瘤患者提供更广更优的用药选择，也具有广阔的市场前景。

虽然，现有技术中也有报道以 MMAE 作为毒素的 VEGF ADC (Bevacizumab Vedotin) (Yanchen Li, et al., Bioorg Chem. 2023 Aug:137:106575. doi: 10.1016/j.bioorg.2023.106575.)，但 MMAE 作为毒素的 ADC 在临床上表现出所特有的眼部、周围神经病变等毒性。

由此，本领域目前急需开发出一种针对 VEGF 的抗体药物偶联物。

发明内容

本披露提供了一种抗 VEGF 抗体的药物偶联物以及其用于治疗癌症的用途。

本披露提供了一种不同作用机制的 VEGF-ADC，具有良好的抗肿瘤活性和/或安全性，拓宽了临床用药选择范围，具有重大临床价值。

本披露首次采用喜树碱类分子作为 VEGF-ADC 的毒素，是一种全新作用机制的 ADC，具有良好抗肿瘤活性，同时具有良好的体循环稳定和/或安全性，提高了治疗窗。

本披露的抗体药物偶联物，是全球首个即将进入临床的靶向 VEGF 的 ADC 分子，具有发挥抗 VEGF 抗体抗肿瘤血管生成的作用，又能同时发挥利用 ADC 携带的毒素(喜树碱类)杀伤肿瘤细胞的作用，且二者还具有协同抗肿瘤作用，同时还利用了本披露的 ADC 分子在肿瘤微环境的特异性释放机制，这些多种的作用机制能更好的抑制肿瘤，从而通过一次给药就能发挥两种抗肿瘤机制，对患者也具有极大的便利性。

抗体药物偶联物

第一方面，本披露提供了一种抗体药物偶联物，其为式(I)化合物，或其互变异构体、立体异构

体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物(例如水合物):

Ab-[L-D]q

式(I)

其中,

Ab 为特异性结合血管内皮生长因子(VEGF)的抗体或其抗原结合片段;

L 是键或连接分子,其共价连接 Ab 和 D;

q 是 1-16 之间的整数,且表示共价连接至 Ab 的 L-D 的数目;

D 为喜树碱类药物分子。

Ab

在一些实施方案中,Ab 是特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段(VEGF 抗体或其抗原结合片段)。在一些实施方案中,Ab 包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区包含三个 CDR-H,即 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3,且轻链可变区包含三个 CDR-L,即 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3。

在一些实施方案中,作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含:SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L,其中,所述 CDR 根据 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、Contact 方案或其任意组合进行定义。

在一些实施方案中,作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含:SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L,其中,所述 CDR 根据 Chothia 方案进行定义。

在一些实施方案中,作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区,其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3;或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3,其中,根据 Chothia 方案定义,

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列;

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列;

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列;

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列;

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列;和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中,作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区,其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3;或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3,其中,根据 Chothia 方案定义,

CDR-H1 由 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列组成;

CDR-H2 由 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列组成;

CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成;

CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成;

CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成;和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中,作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含:SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L,其中,所述 CDR 根据 AbM 方案进行定义。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 AbM 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 AbM 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Kabat 方案进行定义。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 Kabat 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 Kabat 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Contact 方案进行定义。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 Contact 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:15 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:24 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:25 所示的氨基酸序列；和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 Contact 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:15 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:24 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:25 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 IMGT 方案进行定义。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 IMGT 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:16 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:20 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列；和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区或轻链可变区，其中所述重链可变区包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且所述轻链可变区包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3；或者作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含三个 CDR-H CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 和三个 CDR-L CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其中，根据 IMGT 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:16 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:20 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含如下 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、或 Contact 定义方案中的 CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3，CDR-L1，CDR-L2，CDR-L3：

	定义方案	序列	SEQ ID No
CDR-H1	Chothia	GYTFTNY	5
	AbM	GYTFTNYGMN	6
	Kabat	NYGMN	7
	Contact	TNYGMN	8
	IMGT	GYTFTNYG	9
CDR-H2	Chothia	NTYTGE	10
	AbM	WINTYTGEPT	11
	Kabat	WINTYTGEPTYAADFKR	12
	Contact	WVGWINTYTGEPT	13
	IMGT	INTYTGEPT	14
CDR-H3	Chothia	YPHYYGSSHWYFDV	17
	AbM	YPHYYGSSHWYFDV	17
	Kabat	YPHYYGSSHWYFDV	17
	Contact	AKYPHYYGSSHWYFD	15
	IMGT	AKYPHYYGSSHWYFDV	16

和

	定义方案	序列	SEQ ID No
CDR-L1	Chothia	SASQDISNYLN	23
	AbM	SASQDISNYLN	23
	Kabat	SASQDISNYLN	23
	Contact	SNYLNWY	24
	IMGT	QDISNY	20
CDR-L2	Chothia	FTSSLHS	19
	AbM	FTSSLHS	19
	Kabat	FTSSLHS	19
	Contact	VLIYFTSSLH	25
	IMGT	FTS	18
CDR-L3	Chothia	QQYSTVPWT	22
	AbM	QQYSTVPWT	22
	Kabat	QQYSTVPWT	22
	Contact	QQYSTVPW	21
	IMGT	QQYSTVPWT	22

在一些实施方案中，Ab 包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列或由其组成，和/或所述轻链可变区包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列或由其组

成。

在一些实施方案中，Ab 包含重链可变区和轻链可变区，其中

(i) 所述重链可变区包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列；或者

(ii) 所述重链可变区由 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列组成，和所述轻链可变区由 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，Ab 包含重链可变区和轻链可变区，其中

(i)所述重链可变区包含与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列；或者

(ii) 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和包含所述轻链可变区与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，Ab 包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)。

在一些实施方案中，Ab 包含：与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的重链可变区(VH)，和与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的轻链可变区(VL)。

在一些实施方案中，Ab 包含：与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的重链可变区(VH)，和与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的轻链可变区(VL)。

在一些实施方案中，Ab 包含重链和轻链，其中重链包含所述重链可变区和重链恒定区，或由其组成；且所述轻链包含所述轻链可变区和轻链恒定区，或由其组成。

在一些实施方案中，所述重链恒定区是（人）IgG 的重链恒定区，例如（人）IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重链恒定区。在一些实施方案中，所述轻链恒定区是（人）Kappa 或 Lambda 的轻链恒定区。

在一些实施方案中，Ab 包含重链和轻链，其中所述重链包含 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列或由其组成，和/或所述轻链包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列或由其组成。

在一些实施方案中，Ab 包含重链和轻链，其中

(i) 所述重链包含 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列；或者

(ii) 所述重链由 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列组成，和所述轻链由 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，Ab 包含重链和轻链，其中

(i)所述重链包含与 SEQ ID NO:1 相比具有至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO:2 相比具有 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列；或者

(ii) 所述重链包含与 SEQ ID NO:1 相比至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和包含所述轻链与 SEQ ID NO:2 相比具有至少 90%、至少 95%、至

少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，Ab 包含：SEQ ID NO:1 的重链和 SEQ ID NO:2 的轻链。

在一些实施方案中，Ab 包含：与 SEQ ID NO:1 相比具有至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的重链，和与 SEQ ID NO:2 相比具有至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的轻链。

在一些实施方案中，Ab 包含：与 SEQ ID NO:1 相比至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的重链，和与 SEQ ID NO:2 相比具有至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的轻链。

在一些实施方案中，所述 Ab 包含两条重链和两条轻链，例如两条相同的重链和两条相同的轻链。

在一些实施方案中，Ab 是人源化抗体、人抗体或嵌合抗体。

在一些实施方案中，Ab 是全长抗体。

在一些实施方案中，Ab 是抗原结合片段，例如单链 Fv(scFv)，Fab，Fab'，$F(ab')_2$，二硫键连接的 Fv(sdFv)，Fv，di-scFv 等。

在一些实施方案中，Ab 选自 WO9845331 或 CN109053895B 中公开的抗体或其抗原结合片段，例如其中公开的 Bevacizumab 或其生物类似物或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，Ab 选自 Bevacizumab 或其生物类似物或其抗原结合片段。

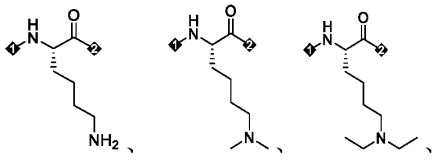
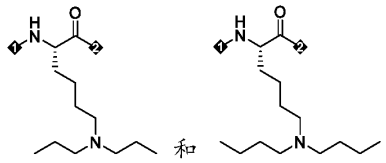
在一些实施方案中，Ab 选自选自以下任一 Bevacizumab 的生物类似物或其抗原结合片段，包括但不限于 ABP 215，BCD-021，FKB238，Mvasi (Bevacizumab-awwb)，PF-06439535，SB8，Zirabev (Bevacizumab-bvzr)，QL1101，IBI305，SHR-1603，BAT1706，HS008，MIL60 或其抗原结合片段。

L

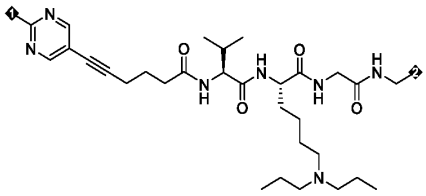
在一些实施方案中，L 包含氨基酸残基或由 2-10 个氨基酸残基组成的短肽。

在一些实施方案中，L 包含能在肿瘤微环境裂解的氨基酸残基或由 2-10 个氨基酸残基组成的短肽。

在一些实施方案中，L 中的氨基酸残基为天然氨基酸残基或其修饰。

在一些实施方案中，L 包含选自 Val、D-Val、Cit、Phe、Lys、Lys(Ac)、Leu、Gly、Ala、Asn、Asp、Arg、AA^1 的氨基酸残基或由 2-10 个选自 Val、Cit、Phe、Lys、D-Val、Leu、Gly、Ala、Asn、Asp、AA^1 的氨基酸残基组成的短肽，其中 AA^1 选自 、 和 。可以理解，AA^1 的 ◆ 和 ◆ 表示该价键与分子的其余部分连接。

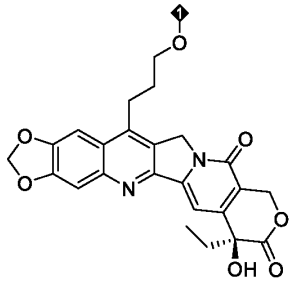
在一些实施方案中，L 包含 Val-AA^1-Gly，其中 AA^1 如本文所定义。

在一些实施方案中，L 选自  ，其中 1 位与 Ab 连接，2 位与 D 连接。

D

在一些实施方案中，D 选自喜树碱、SN38、DXD、取代基被修饰的喜树碱、取代基被修饰的 DXD 或取代基被修饰的 SN38。

在一些实施方案中，D 选自：

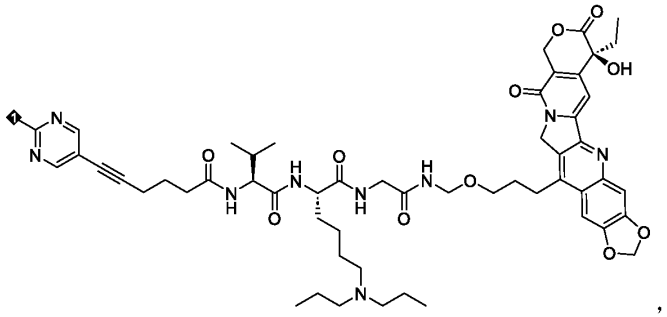
 ，其中 1 位与 L 连接。

q

在一些实施方案中，q 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16。在一些实施方案中，q 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

L-D

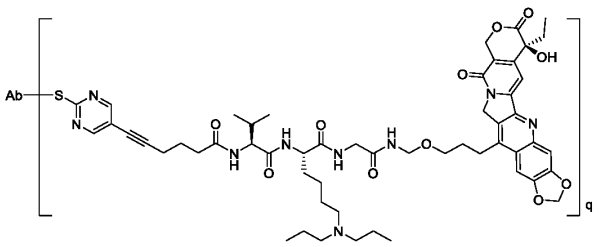
在一些实施方案中，L-D 选自：

 ，

其中 1 位与 Ab 连接。

ADC

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或式(I)化合物选自



其中，q 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

可以理解，结构式中的 S 来自 Ab，即，-L-D 部分通过来自 Ab 的硫(S)原子与 Ab 共价连接。

在一些实施方案中，Ab 是 VEGF 抗体或其抗原结合片段，例如本文“Ab”节所定义的抗体或其抗原结合片段。

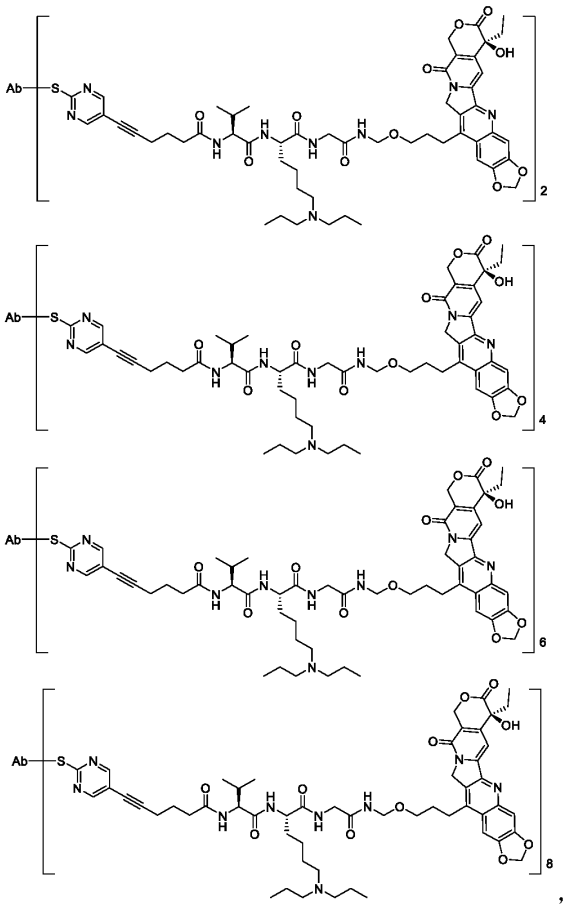
在一些实施方案中，作为 Ab 的所述 VEGF 抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、Contact 方案或其任意组合进行定义。

在一些实施方案中，作为 Ab 的所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)，优选地，Ab 选自 Bevacizumab 或其生物类似物或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，q 选自 2、4、6 或 8。

在一些实施方案中，q 选自 4 或 8。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或式(I)化合物选自:



其中 Ab 选自 Bevacizumab 或其生物类似物。

抗体药物偶联物的群

在本披露的第二方面，本披露提供了一种抗体药物偶联物群，其包含第一方面所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物或由其组成，其中所述的抗体-药物偶联物具有一种、两种或更多种 q 值。

在一些实施方案中，当所述的抗体药物偶联物群中抗体药物偶联物的一种 q 值占大部分(如 80%，85%，90%，95%，95%，97%，98%，99%或更高)时，q 值和平均 DAR 接近。

在一些实施方案中，当所述的抗体药物偶联物群中只有一种 q 值抗体药物偶联物时，q 值和平均 DAR 相等。

在一些实施方案中，当所述抗体药物偶联物群的抗体药物偶联物具有两种或更多种 q 值时，其中一个特定 q 值的抗体药物偶联物中占组合物中所有抗体药物偶联物的比例大于 50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物群中抗体药物偶联物中的平均药物与抗体的比例(平均 DAR)选自 1-16、优选 1-10 中的整数或小数。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物群的平均药物与抗体的比例(平均 DAR)选自 1.5-2.5、3.5-4.5、5.5-6.5 或 7.5-8.5。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物群的平均药物与抗体的比例(平均 DAR)选自约 2.0、约 4.0、约 6.0 或约 8.0。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物群中抗体药物偶联物中的平均药物与抗体的比例(平均DAR)选自2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.2、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.7、8.9、9或9.7。

在一些实施方案中，所述的抗体药物偶联物群含有具有1至8的DAR的分布的ADC，例如，1.5、2、4、6和8(即，1.5、2、4、6和8的载药群)。值得注意的是，可以产生降解产物，使得所述的混合物中也可以包含1、3、5和7的DAR。此外，所述的抗体药物偶联物群也可具有大于8的平均DAR。所述的抗体药物偶联物由链间二硫化物还原然后偶联产生。在一些实施方案中，所述的抗体药物偶联物包含如下两者：DAR为4或更低(即，载药群为4或更低)的所述的抗体药物偶联物以及DAR为6或更高(即，载药群为6或更高)的所述的抗体药物偶联物。

药物组合物

在本披露的第三方面，本披露提供了一种药物组合物，其包含第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，或第二方面的抗体药物偶联物的群，以及任选的一种或多种药用辅料，如本领域中已知的药用载体、药用赋形剂，包括缓冲剂。

在某些实施方案中，所述药物组合物包含有效量的以下物质：第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，或第二方面的抗体药物偶联物的群。

在某些实施方案中，所述药物组合物包含上述抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，以及药用辅料。

在某些实施方案中，本披露的药物组合物包含第二方面的抗体药物偶联物的群，及药用辅料。

在某些实施方案中，本披露的药物组合物包含本披露的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，以及药用辅料。

在一些实施方案中，所述药物组合物或抗体-药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均DAR)选自1-10中的整数或小数。

在一些实施方案中，所述药物组合物或抗体-药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均DAR)选自1.5-2.5、3.5-4.5、5.5-6.5和7.5-8.5。

在一些实施方案中，所述药物组合物或抗体-药物偶联物群中的DAR选自：2±0.5，4±0.5，5±0.5，6±0.5，7±0.5，8±0.5。

在一些实施方案中，所述药物组合物或抗体-药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均DAR)选自约2.0、约4.0、约6.0或约8.0。

在一些实施方案中，所述药物组合物或抗体-药物偶联物群中的药物与抗体的比例(平均DAR)选自2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.2、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.7、8.9、9或9.7。

在一些实施方案中，所述药物组合物包含第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物和缓冲液。

在一些实施方案中，所述药物组合物包含第二方面的抗体药物偶联物的群和缓冲液。

在一些实施方案中，所述药物组合物用于疗法。在一些实施方案中，所述药物组合物用于治疗和/或预防与细胞活动异常相关的疾病(例如肿瘤)。在一些实施方案中，所述药物组合物用于调整(抑制或阻断)VEGF的活性。在一些实施方案中，所述药物组合物用于治疗或预防与VEGF的活性有关的疾病或与VEGF的靶点相关的疾病。在一些实施方案中，所述药物组合物用于治疗或预防与VEGF的活性有关的肿瘤。

治疗肿瘤的用途

第四方面，本披露提供了本披露的物质(包括前述的抗体药物偶联物，抗体药物偶联物的群、前述的药物组合物)的用途，用作药物或用于制备药物，所述药物用于疗法，例如用于治疗和/或预防与细胞活动异常相关的疾病(例如癌症疾病)。在一些实施方案中，所述的抗体药物偶联物、抗体药物偶联物的群、前述的药物组合物为有效量的，例如预防有效量的或治疗有效量的。

在一些实施方案中，提供本披露的第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物的用途，用作药物或用于制备药物，所述药物用于调整(抑制或阻断) VEGF 的活性。

在一些实施方案中，提供本披露的第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物的用途，用作药物或用于制备药物，所述药物用于治疗或预防与 VEGF 的活性有关的疾病或与 VEGF 的靶点相关的疾病。

在一些实施方案中，提供本披露的第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物的用途，用作药物或用于制备药物，所述药物用于治疗或预防与 VEGF 的活性有关的肿瘤。

治疗肿瘤的方法

第五方面，本披露提供了一种将上述第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物用于治疗和/或预防与细胞活动异常相关的疾病(例如肿瘤)的方法。

在一些实施方案中，提供了将第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物用于调整(抑制或阻断) VEGF 的活性的方法。

在一些实施方案中，提供了将第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物用于治疗或预防与 VEGF 的活性有关的疾病或与 VEGF 的靶点相关的疾病的方法。在一些实施方案中，所述疾病是与 VEGF 的活性有关的肿瘤。

在一些实施方案中，所述方法包括施用上述第一方面的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，第二方面的抗体药物偶联物的群，第三方面的药物组合物。

在上述第三、第四、第五方面中，所述的与 VEGF 的活性有关的疾病或与 VEGF 的靶点相关的疾病或与细胞活动异常相关的疾病包括肿瘤，例如癌症。癌症可以处于早期、中期或晚期或是转移性癌。在一些实施方案中，癌症可以是实体肿瘤或血液肿瘤。

在一个实施方案中，所述肿瘤是指在个体的肿瘤组织或肿瘤细胞中，例如与个体的相邻正常组织或正常细胞(例如组织中的正常细胞)或健康个体的相同组织或其中的细胞相比，VEGF 的蛋白质水平(例如表达)升高，或 VEGF 的核酸水平升高。

所述肿瘤选自但不限于：肺癌(例如非小细胞肺癌、肺腺癌)、结肠癌(例如人结肠腺癌)、直肠癌、胃癌、结直肠癌(如结直肠腺癌)。

可以理解，在本披露的各个方面及其各个实施方案和特征可以与任意其他方面、实施方案和特征组合以提供其它实施方案，这些组合的实施方案也落入本申请的范围内。此外，本文中所述的方法、实例和材料等仅仅是说明性的，不以任何方式限制本披露。本领域技术人员容易想到的改变将

包括在本披露的宗旨和范围内。本文提及的全部出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用的方式完整地并入。

定义

本申请所用的术语和符号具有本领域技术人员通常理解的含义，另有说明除外。特别地，本申请的下列术语具有下文指示的含义，另有说明除外。

本文所用的表述“一种”、“一个”、“该”、“所述”或实体本身包括其单数形式和复数形式，另有指示除外。

本披露的免疫球蛋白分子可以是免疫球蛋白的任何类型(例如 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 和 IgY)，类别(例如 IgG1，IgG2，IgG3，IgG4，IgA1 和 IgA2)或亚类。优选地，本披露的抗体包含或由具有序列及其具体信息表所述任一氨基酸序列或其片段或变体的 VH 区，VH CDR(本文中多用 CDR-H 表示)，VL 区，或 VL CDR(本文中多用 CDR-L 表示)组成。

优选地，本披露的抗体包含或由具有序列及其具体信息表所述任一氨基酸序列或其片段或变体的 VH 结构域，VH CDR(本文中多用 CDR-H 表示)，VL 结构域，或 VL CDR(本文中多用 CDR-L 表示)组成。

在本披露中，术语“单克隆抗体”指抗体来自一群基本均一的抗体，即构成该集群的各抗体完全相同，除了可能存在的少量天然突变。此处修饰语“单克隆”表示该抗体的特征在于来自一个基本均一的抗体群，而不应理解成需由特殊方法制得。

在本披露的部分实施方案中，单克隆抗体还特别包括嵌合抗体，即重链和/或轻链的一部分与某种、某类或某亚类抗体相同或同源，其余部分则与另一种、另一类或另一亚类抗体相同或同源，只要它们具有所需的生物学活性。可用于本披露的嵌合抗体包括灵长类化(primatized)抗体，其包含来自非人灵长类(例如古猴、猩猩等)的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。

术语“抗原结合片段”是指抗体的一部分，优选是抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括 Fab、Fab′、$F(ab')_2$、Fd、Fv、dAb 和互补决定区片段，二抗体(diabody)，线性抗体和单链抗体分子。本文中使用的术语“抗原结合片段”表示抗体的具有抗原结合活性的部分片段，其 中所述片段具有抗体的完全或部分功能，包括非限于单链 Fv(scFv)，Fab，Fab’，$F(ab')_2$，二硫键连接的 Fv(sdFv)，Fv，di-scFv 等。该术语也包括 Fab’，其 为在还原条件下处理 F(ab’)2 得到的抗体的可变区的单价片段。但是，该术语不限于这些分 子，只要所述片段具有与抗原的结合亲和力即可。此外，这些功能片段不仅包括用适当的酶 处理抗体蛋白的全长分子得到的片段，而且包括使用遗传修饰的抗体基因在适当宿主细胞 中生产的蛋白。

本文中使用的术语“Fab’”表示如上所述在还原条件下处理 $F(ab')_2$ 得到的抗体的 可变区的单价片段。但是，本披露的 Fab’也包括使用遗传修饰的抗体基因生产的 Fab’。

如本文中所使用的，术语“scFv”是指，包含 VL 和 VH 结构域的单个多肽链，其中所述 VL 和 VH 通过接头(linker)或直接相连(参见，例如，Bird 等人，Science 242:423-426 (1988)；Huston 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)；和 Pluckthun，The Pharmacology of Monoclonal Antibodies，第 113 卷，Roseburg 和 Moore 编，Springer-Verlag，纽约，第 269-315 页(1994))。此类 scFv 分子可具有一般结构：NH2-VL-接头-VH-COOH 或 NH2-VH-接头-VL-COOH。合适的现有技术接头由重复的 GGGGS 氨基酸序列或其变体组成。例如，可使用具有氨基酸序列(GGGGS)4 的接头，但也可使用其变体(Holliger 等人(1993)，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448)。可用于本披露的其他接头由 Alfthan 等人(1995)，Protein Eng. 8:725-731，Choi 等人(2001)，Eur. J. Immunol. 31: 94-106，Hu 等人(1996)，Cancer Res. 56:3055-3061，Kipriyanov 等人(1999)，J. Mol. Biol. 293: 41-56 和 Roovers 等人(2001)，Cancer Immunol.描述。在一些情况下，scFv 的 VH 与 VL 之间还可以存在二硫键。如本文中所使用的，术语“di-scFv”是指，由两个 scFv 连接形成的抗体片段。

术语“可变区”或“可变域”或“可变结构域”指抗体重链和/或轻链中涉及抗体结合抗原的域。天然

IgG 抗体 VH 和 VL 各包含四个保守的框架区(FR)和三个互补决定区(CDR)。其中，术语“互补决定区”或“CDR”指可变结构域内主要促成与抗原结合的区域；“框架”或“FR”是指可变结构域中除 CDR 残基之外的可变结构域残基。VH 包含 3 个 CDR 区：CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3；VL 包含 3 个 CDR 区：CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3。每个 VH 和 VL 由从氨基末端排到羧基末端按以下顺序排列的三个 CDR 和四个 FR 构成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。单个 VH 或 VL 可能足以赋予抗原结合特异性。

可以通过各种公知定义方案来确定 CDR 的氨基酸序列的边界，例如：“Kabat”定义方案规则(参见 Kabat 等(1991)，“Sequences of Proteins of Immunological Interest”，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD)、“Chothia” 定义方案、“ABM” 定义方案、“contact” 定义方案(参见 Martin，ACR.Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[J].2001)和 ImMunoGenTics(IMGT) 定义方案(Lefranc，M.P.等，Dev.Comp.Immunol.，27，55-77(2003)；Front Immunol.2018 Oct 16；9:2278)等；各种定义方案之间的对应关系是本领域技术人员熟知的，示例性的，如下中所示。

CDR 定义方案之间的关系

Loop	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36	L27--L32
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55	L50--L51
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96	L89--L97
CDR-H1	H31--H35B (Kabat Numbering)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H26--H35B
CDR-H1	H31--H35 (Chothia Numbering)	H26--H35	H26--H32	H30--H35	H26--H33
CDR-H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58	H51--H56
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101	H93--H102

应当理解，可以对本文所述的抗体或其抗原结合片段进行一定的修饰，例如对其进行氨基酸取代、缺失和/或添加（优选在 CDR 区之外，更优选在可变区之外），来获得仍然具有结合所述抗原的活性的抗体，这些抗体也涵盖在本发明所述的抗 VEGF 抗体之内。

术语“完整抗体”或“全长抗体”指包含抗原结合可变区和轻链恒定区(CL)、重链恒定区(CH1、CH2和 CH3)的抗体。恒定区可以是天然序列(例如人天然恒定区序列)或其氨基酸序列变体。完整抗体优选是具有一种或多种效应功能的完整抗体。在本披露中，非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式指包含最少量非人免疫球蛋白序列的嵌合抗体。大多数人源化抗体是人接受者免疫球蛋白的超变区残基被置换成具有所需特异性、亲和力和功能的非人(例如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类)超变区残基(供者抗体)。在一些实施方案中，人免疫球蛋白的框架区(FR)残基也被置换成非人残基。而且，人源化抗体还可以包含受者抗体或供者抗体中没有的残基。这些修饰是为了进一步优化抗体的性能。人源化抗体一般包含至少一个，通常是两个可变区，其中所有或几乎所有超变环(hypervanable loops)与非人免疫球蛋白的相对应，而 FR 则完全或几乎完全是人免疫球蛋白的序列。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc，通常是人免疫球蛋白 Fc)的至少一部分。

完整抗体可根据重链恒定区的氨基酸序列分为不同的“类”。主要的五类是 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，其中几类还可以分为不同的“亚类”(同种型)，例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2。抗体不同类的重链恒定区分别称为 α、β、ε、γ 和 μ。免疫球蛋白不同类的亚基结构和三维构型是本领域中公知的。

在本文中，本披露的抗体或其抗原结合片段含有的 CDR 可根据本领域已知的各种定义方案确定。在某些实施方案中，本披露的抗体或其抗原结合片段含有的 CDR 优选地分别通过 Kabat、Chothia

或，AbM、IMGT、Contact 定义方案确定。

如本文中所使用的，术语“构架残基区”或“FR 残基”是指，抗体可变区中除了如上定义的 CDR 残基以外的那些氨基酸残基。

本文涉及的二十个常规氨基酸的编写遵循常规用法。参见例如，Immunology-A Synthesis (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates , Sunderland, Mass. (1991))，其以引用的方式并入本文中。在本文中，术语“多肽”和“蛋白质”具有相同的含义且可互换使用。并且在本披露中，氨基酸通常用本领域公知的单字母和三字母缩写来表示。例如，丙氨酸可用 A 或 Ala 表示；精氨酸可用 R 或 Arg 表示；甘氨酸可用 G 或 Gly 表示；谷氨酰胺可用 Q 或 Gln 表示。

本文所述的“血管内皮生长因子（Vascular Endothelial Growth Factor，简称 VEGF）”是一种由多种细胞产生的信号蛋白，能够刺激血管的形成。具体来说，VEGF 是血小板源性生长因子家族中的一个亚家族，属于半胱氨酸结结构的生长因子。它们是重要的信号蛋白，参与血管发生（胚胎循环系统的全新形成）和血管生成（从已有的血管系统中形成新的血管）这两个过程。在哺乳动物中，VEGF 家族包含五个成员：VEGF-A、胎盘生长因子（PlGF）、VEGF-B、VEGF-C 和 VEGF-D。这些成员中，VEGF-A 是最先被发现的。因此，VEGF-A 也可以被称为 VEGF。其活性主要在血管内皮细胞上进行了研究，尽管它也对许多其他细胞类型产生影响（例如，刺激单核细胞/巨噬细胞的迁移、神经元、癌细胞、肾上皮细胞）。体外研究表明，VEGF-A 能够促进内皮细胞的增殖和迁移。此外，VEGF-A 还具有舒张血管的作用，并且会增加微血管的通透性，这也是它最初被称为血管通透性因子的原因。在本文中，VEGF 可以是 VEGF-A，例如人 VEGF-A。在一些实施方案中，所述 VEGF-A 是 VEG165 亚型，例如人 VEGF-165。

本文所用的术语“特异性结合 VEGF 的抗体”或“抗 VEGF 抗体”、“抗 VEGF”、“VEGF 抗体”或“抗 VEGF 的抗体”是指这样的抗体，所述抗体或其抗原结合片段能够以足够的亲合力结合 VEGF 蛋白。

如本文所使用的，术语“氨基酸”是指天然存在和合成的氨基酸。氨基酸可以是 L 或 D 异构体。在一些实施方案中，氨基酸是天然氨基酸，即在生物体内自然合成并参与蛋白质构建的氨基酸。示例性的天然氨基酸的名称及其对应的缩写列在下面的表格中：

氨基酸缩写		
名称	**三字符号**	**单字符号**
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酰胺	Gln	Q
谷氨酸	Glu	E
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
甘氨酸	Gly	G
天冬酰胺	Asn	N
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W

酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

本披露的氨基酸还包括其他氨基酸例如瓜氨酸(Cit; C)，其也是天然存在的氨基酸。

在没有特别指明的时候，本披露的氨基酸是指 L-氨基酸。

本文所述的氨基酸还可以是经修饰的氨基酸，所述修饰例如可以通过化学或生物方法对天然氨基酸的结构进行改造，从而赋予其新的功能或特性。这种修饰可以发生在氨基酸的侧链、氨基或羧基等部位。

如本文所使用的，术语“天然氨基酸残基或其修饰”涵盖天然的氨基酸以及修饰的氨基酸。

生物类似物(biosimilar)是指与已获批的原研生物药（参照药，Reference Product，如 Bevacizumab 或 avastin）在序列上一致，在结构、功能、质量、安全性和有效性上高度相似，但允许存在微小差异（因生产工艺不同）的生物制品。

如本文所使用的，术语“免疫偶联物”在本文中是指通过接头将效应分子连接到抗体或其抗原结合片段上，从而抗体或其抗原结合片段可以作为载体将该效应分子靶向运输到目标位点。术语 “效应分子”指缀合本披露的抗体或抗体片段的活性部分，并且可以包括用于附着抗体或抗体片段的任何部分。在一些实施方案中，效应分子可以是药物例如小分子药物、DNA、RNA、酶或多肽等。在一些实施方案中，免疫偶联物涵盖抗体药物偶联物(ADC)。适用于与抗体相连的效应分子或活性部分包括例如抗肿瘤剂、免疫调节剂、生物反应修饰剂、凝集素、细胞毒性药物、发色团、荧光团、化学发光化合物、酶、金属离子，以及其任何组合等。在一些实施方案中，本披露的免疫偶联物是抗体药物偶联物即 ADC。

本文使用的术语“免疫调节剂”指抑制或调节(例如激活)免疫应答的天然或合成活性剂或者药物。免疫应答可以是体液应答或细胞应答。免疫调节剂包含免疫抑制剂。在一些实施方案中，本披露的免疫调节剂包括免疫检查点抑制剂或免疫检查点激动剂。

如本文中所使用的，术语“预防”是指，为了阻止或延迟疾病或病症或症状(例如，肿瘤和传染病)在受试者体内的发生而实施的方法。如本文中所使用的，术语“治疗”是指，为了获得有益或所需临床结果而实施的方法。为了本披露的目的，有益或所需的临床结果包括但不限于，减轻症状、缩小疾病的范围、稳定(即，不再恶化)疾病的状态，延迟或减缓疾病的发展、改善或减轻疾病的状态、和缓解症状(无论部分或全部)，无论是可检测或是不可检测的。此外，“治疗”还可以指，与期望的存活期相比(如果未接受治疗)，延长存活期。

如本文中使用的，术语“受试者”是指哺乳动物，例如灵长类哺乳动物，例如非人灵长类哺乳动物或人。在某些实施方式中，所述受试者(例如人)患有肿瘤和传染病，或者，具有患有上述疾病的风险。

如本文中所使用的，术语“有效量”是指足以获得或至少部分获得期望的效果的量。例如，预防疾病(例如，肿瘤和传染病)有效量是指，足以预防、阻止或延迟疾病(例如，肿瘤和传染病)的发生的量；治疗疾病有效量是指，足以治愈或至少部分阻止已患有疾病的患者的疾病和其并发症的量。测定这样的有效量完全在本领域技术人员的能力范围之内。例如，对于治疗用途有效的量将取决于待治疗的疾病的严重度、患者自己的免疫系统的总体状态、患者的一般情况例如年龄，体重和性别，药物的施用方式，以及同时施用的其他治疗等等。

术语“药用辅料”指与活性物质一起施用的稀释剂、佐剂(例如弗氏佐剂(完全和不完全的))、赋形剂、载体或稳定剂等。

术语“药物组合物”指这样的组合物，其以允许包含在其中的活性成分的生物学活性有效的形式存在，并且不包含对施用所述组合物的受试者具有不可接受的毒性的另外的成分。

本文所使用的术语“标记”是指被直接或间接缀合或融合至试剂(诸如多核苷酸探针或抗体)并且促进其所缀合或融合的试剂的检测的化合物或组合物。标记本身可以是可检测的(例如，放射性同位素标记或荧光标记)或在酶促标记的情况下可以催化可检测的底物化合物或组合物的化学改变。术语旨在涵盖通过将可检测物质偶联(即，物理连接)至探针或抗体来直接标记探针或抗体以及通过与直

接标记的另一种试剂反应来间接标记探针或抗体。

“分离的”抗体或分子是这样的抗体或分子，其已经与其天然环境的组分分离。在一些实施方案中，将抗体或分子纯化至超过95%或99%纯度，如通过例如电泳(例如，SDS-PAGE，等电聚焦(IEF)，毛细管电泳)或层析(例如，离子交换或反相HPLC)确定的。

氨基酸序列的“同一性百分数(%)”是指将候选序列与本说明书中所示的具体氨基酸序列进行比对并且如有必要的话为达到最大序列同一性百分数而引入空位后，并且不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分时，候选序列中与本说明书中所示的具体氨基酸序列的氨基酸残基相同的氨基酸残基百分数。在一些实施方案中，本披露中的抗体还涵盖所述抗体分子的变体，所述变体相对于在本文中具体披露的抗体分子及其序列而言具有相当程度的同一性，例如同一性为至少80%,85%,90%,95%, 97%, 98%或99%或更高。所述变体可以包含保守性改变。

术语“约”在与数字数值联合使用时意为涵盖具有比指定数字数值小 5%的下限和比指定数字数值大5%的上限的范围内的数字数值。

如本文所用，术语“和/或”意指可选项中的任一项或可选项的两项或多项。

如本文所用，术语“包含”或“包括”意指包括所述的要素、整数或步骤，但是不排除任意其他要素、整数或步骤。在本文中，当使用术语“包含”或“包括”时，除非另有指明，否则也涵盖由所述及的要素、整数或步骤组成的情形。例如，当提及“包含”某个具体序列的抗体可变区时，也旨在涵盖由该具体序列组成的抗体可变区。

当提及“本披露的物质”或“本发明的物质”时，其涵盖本文所定义的各种分子或组合物中的一种或多种，例如涵盖如下中的一种或多种：本文定义的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物，抗体药物偶联物的群，或药物组合物。

术语“药学上可接受的”指当分子本体、分子片段或组合物适当地给予动物或人时，它们不会产生不利的、过敏的或其他不良反应。可作为药学上可接受的载体或其组分的一些物质的具体示例包括糖类(如乳糖)、淀粉、纤维素及其衍生物、植物油、明胶、多元醇(如丙二醇)、海藻酸等。

术语“药物与抗体比率”或“DAR”是指偶联于本文所述的抗体部分(Ab)的药物部分(D)与抗体部分的数量比例。ADC 的 DAR 可以在 1 到 20 的范围内，但是取决于抗体上的连接位点的数量，更高的负载也是可能的。提及负载到单个抗体上的药物的数量时，或可替代地，提及一组 ADC 的平均或均值 DAR 时，可以使用术语 DAR。DAR 也可被计算为产品中分子群体的平均 DAR，即通过检测方法(例如通过常规方法如质谱法、ELISA 测定、电泳和/或 HPLC)测得的产品中偶联于本文所述的 Ab 部分的药物部分(D)与 Ab 部分的总体比例(摩尔比例)，此 DAR 在文中称为平均 DAR。在一些实施方案中，本披露的抗体药物偶联物的平均 DAR 值是 1.0-20.0，例如 1.0-18.0、1.0-16.0、2.0-14.0、3.0-12.0、4.0-10.0、5.0-9.0、6.0-8.0、1.0-8.0，2.0-6.0，例如 1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8.0、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10.0、12.0 和 16.0，以这些数值中的两个作为端点的范围。

在质谱法测定 DAR 值的过程中，抗体已经被还原为分离的重轻链，DAR1 代表包含轻链或重链偶联 1 个毒素分子的偶联物；DAR2 代表包含轻链或重链偶联 2 个毒素分子的偶联物；DAR3 代表包含轻链或重链偶联 3 个毒素分子的偶联物；以此类推。

术语“药物”是指可以改变或查明机体的生理功能及病理状态，可用以预防，诊断和治疗疾病的化学物质；尤其包括抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。药物包括细胞毒性剂，尤其小分子细胞毒性剂。药物和毒物之间并无严格界限，毒物是指在较小剂量即对机体产生毒害作用，损害人体健康的化学物质，任何药物剂量过大都可产生毒性反应。

细胞毒性剂，即抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒性药物原则上在足够高的浓度下都可以杀死肿瘤细胞，但是由于缺乏特异性，在杀伤肿瘤细胞的同时，也会导致正常细胞的凋亡，导致严重的副作用。细胞毒性剂包括毒素，如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒 素，放射性同位素(例如 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}和 Lu 的放射性同位素)，化疗药物，抗生素和核溶酶。另外，其包括但不限于 DNA 拓扑异构酶抑制剂(例如喜树碱类生物活性分子，例如喜树碱、DXD、取代基被修饰的喜树碱或取代基被修饰的 DXD，羟基喜树碱、9-氨基喜树碱、SN-38、伊立替康、拓扑替康、贝洛替康、卢比替康)或微管蛋白抑制剂(例如 MMAF 类微管蛋白抑制剂，MMAE 类微管蛋白抑制剂)。

为了避免歧义，能够成为 ADC 的组成部分的“药物(drug)”并非仅指已获得医药监管部门审批的“药品”，还包括临床中，或者研发和学术研究中任何有潜在治疗生物活性的化合物。另外，应当理解，其与“制备药物(medicine)中的用途”的药物含义不同。应当理解，为了与连接体连接，药物分子可能需要进行官能化或衍生化，如此得到的化合物也包括在本披露的药物范畴内。

如本文使用的“取代基被修饰的喜树碱”、“取代基被修饰的 DXD”和“取代基被修饰的 SN38”是指分别在喜树碱、DXD 或 SN38 分子上任意可用的位置被化学修饰的那些，例如通过取代、缩合、氧化、还原、连接保护基等进行化学修饰。

本披露中，所述的“活性药物单元”是抗体-药物偶联物(或称(antibody-drug conjugate, ADC))中，本披露的抗体和连接基团之外的部分，其来自上面所定义的药物。为了方便，在本披露的 ADC 中的“活性药物单元”可能直接用上述药物的名称来称呼，这是为本领域技术人员所理解的。

如本披露所使用，术语“药学上可接受的盐”表示指保持本披露的抗体药物偶联物或者药物连接体偶联物的生物学效应和性能的盐，并且该盐在生物学上或其它方面不是不被期望的。本披露的偶联物(包括抗体药物偶联物和药物连接体偶联物)可以以它们的药学上可接受的盐形式存在，包括酸加成盐和碱加成盐。在本披露中，药学上可接受的酸加成盐表示本披露中的偶联物与有机或无机酸形成的盐，有机或无机酸包括但不限于盐酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、磷酸、硝酸、高氯酸、乙酸、草酸、马来酸、富马酸、酒石酸、苯磺酸、甲磺酸、水杨酸、琥珀酸、柠檬酸、乳酸、丙酸、苯甲酸、对甲苯磺酸、苹果酸等。药学上可接受的碱加成盐表示本披露中的偶联物与有机或无机碱所形成的盐，包括但不限于碱金属盐，例如锂、钠或钾盐；碱土金属盐，例如钙或镁盐；有机碱盐，例如通过与含 N 基团的有机碱形成的铵盐。药学上可接受的盐是优选的。但是，其它盐也可以是有用的，例如在分离或纯化步骤中，其可以在制备期间使用，因此被囊括在本申请的范围内。

药学上可接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得，例如，通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应。

如本披露所使用，术语“立体异构体”表示由于至少一个不对称中心形成的异构体。在具有一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)不对称中心的化合物中，其可产生外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物和单独的非对映异构体。特定个别分子也可以几何异构体(顺式/反式)存在。类似地，本披露的化合物可以两种或更多种处于快速平衡的结构不同的形式的混合物(通常称作互变异构体)存在。互变异构体的代表性实例包括酮-烯醇互变异构体、苯酚-酮互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。要理解，本披露的范围涵盖所有这样的以任意比例(例如 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%)的异构体或其混合物。

本披露中可使用实线(——)、实楔形或虚楔形描绘本披露的化合物的碳-碳键。使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如，特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，存在所示的立体异构体。除非另外指明，否则本披露的化合物意欲可以立体异构体(其包括顺式及反式异构体、光学异构体(例如 R 及 S 对映异构体)、非对映异构体、几何异构体、旋转异构体、构象异构体、阻转异构体及其混合物)的形式存在。本披露的化合物可表现一种以上类型的异构现象，且由其混合物(例如外

消旋混合物及非对映异构体对)组成。

本披露还包括所有药学上可接受的同位素衍生物，其与本披露的物质相同，除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。适合包含入本披露的物质中的同位素的实例包括(但不限于)氢的同位素(例如 ^{2}H、^{3}H)；碳的同位素(例如 ^{11}C、^{13}C 及 ^{14}C)；氯的同位素(例如 ^{36}Cl)；氟的同位素(例如 ^{18}F)；碘的同位素(例如 ^{123}I 及 ^{125}I)；氮的同位素(例如 ^{13}N 及 ^{15}N)；氧的同位素(例如 ^{15}O、^{17}O 及 ^{18}O)；磷的同位素(例如 ^{32}P)；及硫的同位素(例如 ^{35}S)。在一些实施方案中，同位素衍生物是氘代衍生物，即，其中一个或多个氢原子是氘原子。

本披露的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在，其中本披露的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂，特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

在本披露的范围内还包括本披露的化合物的代谢物，即在给药本披露的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此，本披露包括本披露的化合物的代谢物，包括通过使本披露的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

本披露在其范围内进一步包括本披露的化合物的前药。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物，其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。因此，在这些情况中，用于本披露的治疗方法的术语“给药”应包括用所要求保护的化合物中的一种或多种的前药形式来治疗各种疾病或病症，但是在向个体给药后所述前药形式在体内转化成上述化合物。例如，在“Design of Prodrug”,ed.H.Bundgaard,Elsevier,1985 中，描述了选择和制备适合的前药衍生物的常规方法。

本披露中，所述药用辅料是指生产药品和调配处方时，使用的赋形剂和附加剂，是指除活性成分外，在安全性方面已进行了合理的评估，并且包含在药物制剂中的物质。药用辅料或赋形剂除了赋型、充当载体、提高稳定性外，还具有增溶、助溶、缓控释等重要功能，是可能会影响到药品的质量、安全性和有效性的重要成分。根据其来源可分为天然物、半合成物和全合成物。根据其作用与用途可分为：溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、湿润剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏着剂、抗氧剂、螯合剂、渗透促进剂、pH 调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等；根据其给药途径可分为口服、注射、黏膜、经皮或局部给药、经鼻或口腔吸入给药和眼部给药等。同一药用辅料或赋形剂可用于不同给药途径的药物制剂，且有不同的作用和用途。对于药用辅料的使用及其用途，亦参见“Handbook of Pharmaceutical Excipients”,第八版, R.C.Rowe,P.J.Seskey 和 S.C. Owen, Pharmaceutical Press, London, Chicago。

所述药物组合物可根据给药途径制成各种适宜的剂型。例如片剂、胶囊剂、颗粒剂、口服溶液剂、口服混悬剂、口服乳剂、散剂、酊剂、糖浆剂、注射剂、栓剂、软膏剂、乳膏剂、糊剂、眼用制剂、丸剂、植入剂、气雾剂、粉雾剂、喷雾剂等。其中，所述的药物组合物或适宜的剂型可以含有 0.01mg 至 1000mg 的本披露的物质(包括偶联物)或其药学上可接受的盐,适宜含有 0.1mg 至 800mg，优选含有 0.5-500mg，优选含有 0.5 至 350mg，特别优选 1-250mg。有时候超出上述范围的量也是可行的。

所述药物组合物可以注射剂形式(例如肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下注射剂)用药，包括注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液。其中，可使用的载体和溶剂包括水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外，灭菌的非挥发油也可用作溶剂或悬浮介质，如单甘油酯或二甘油酯。所述药物组合物可以输液形式用药。

本披露中，对于“L 通过硫原子与抗体相连”，本领域技术人员可以理解的是，所述的硫原子来自打开二硫键(例如，通过还原剂 TCEP 还原二硫键可以打开二硫键，生成巯基-SH)后的抗体自身所含

有的巯基，也就是说，L 与 Ab 之间的-S-并非另外再外接的硫原子。

本披露中，术语“连接基团”或“连接体”是指将活性药物单元(药物分子)与抗体部分连接起来的片段。在这点上，连接体在连接至抗体或其抗原结合片段之前(即连接体前体)具有可与抗体或其抗原结合片段的官能团形成键的官能团。

本披露中，术语“抗体药物偶联物”或“ADC”是指活性药物单元(药物分子)与抗体或其抗原结合片段部分连接得到的物质。在本披露的部分实施方案中，活性药物单元与靶向部分通过连接体相连。所述连接体在特定环境(例如胞内低 pH 值环境)中或特定作用(例如溶酶体蛋白酶的作用)下能够断裂，从而使生物活性化合物(例如 c-Myc 蛋白降解剂)片段与靶向部分或抗体或其抗原结合片段分离。在本披露的部分实施方案中，所述连接体包含可切割或不可切割的单元，例如肽或二硫键。在本披露的部分实施方案中，活性药物单元与靶向部分或抗体或其抗原结合片段直接通过共价键相连，所述共价键在特定环境或作用下能够断裂，从而使活性药物单元与抗体或其抗原结合片段部分分离。

术语“抗体药物偶联物的群”或“抗体药物偶联物群”是指一组或一群本披露的抗体药物偶联物、其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)、前药或药学上可接受的盐或溶剂合物组成的混合物，其中抗体药物偶联物的 q 可能相同或不同。另外，也可将其称为“抗体药物偶联物混合物”。

发明的有益效果

在一些实施方案中，本披露的抗 VEGF 抗体药物偶联物，利用其连接子在肿瘤微环境中的胞外裂解能力，可以和肿瘤微环境中 VEGF 而非肿瘤细胞表面抗原结合，形成的抗体组成抗体偶联药物，这类抗体偶联药物依然具有高抗肿瘤活性。克服了传统 ADC 技术只能采用与肿瘤细胞表面抗原结合的抗体做 ADC 的难点，针对游离的 VEGF 开发出了高抗肿瘤活性的 ADC。

在一些实施方案中，本披露的抗体偶联药物(ADC)具有更好的溶解度和/或优异的化学稳定性，通过实验可以发现，本披露 VEGF-ADC 具有优异的血浆稳定性和体循环稳定性；本披露 ADC 在血浆中孵育几乎始终保持毒素不脱落，能够减少非目的性毒素在非靶细胞中的脱落，因此具有更高的治疗指数。

本披露通过大量研究发现了一类在肿瘤微环境中(肿瘤细胞内和肿瘤细胞周围均可)裂解的 ADC，能够实现肿瘤细胞胞内、胞外经组织蛋白酶都能释放，最大化将 ADC 递送至肿瘤组织和肿瘤细胞，从而能发挥治疗肿瘤的功效，因此可以通过 VEGF 这种游离抗原实现抗肿瘤效果。

在一些实施方案中，本披露的抗体药物偶联物利用其连接子在肿瘤微环境中的胞外裂解能力以及其在肿瘤微环境中的富集能力，可以和没有细胞内吞能力的抗体以及没有肿瘤细胞外抗原结合能力的抗体组成抗体偶联药物，这类抗体偶联药物依然具有高抗肿瘤活性。

根据上述方式得到的偶联物(ADC)通过对连接子和整体 ADC 分子的理化性质的调整，提高了整个 ADC 分子在相对酸性肿瘤环境中的暴露量，因而 ADC 具有更好的肿瘤组织靶向性，即在肿瘤微环境中的富集能力，增加了生物活性分子在瘤内和血液浓度比，降低了 ADC 分子的机理相关的毒性(ADC 结合非肿瘤组织中细胞表面抗原产生的毒性，或者又叫“on-target 毒性”)，因此具有更高的治疗指数。

在一些实施方案中，根据上述方式得到的偶联物具有很高的在体内循环中的稳定性，减少了药物分子在非靶组织中的脱落，减少了非靶组织中毒素脱落引起的“off-target”毒性。

在一些实施方案中，所述偶联物能够协同发挥抗 VEGF 抗体与毒素的抗肿瘤活性，且其抗肿瘤活性优于抗 VEGF 抗体或毒素单独或组合。

在一些实施方案中，所述偶联物的生物活性分子具有更高的抗肿瘤细胞活性，因此具有优异的旁观者效应(by-stander effect)，ADC 能够更有效地杀死抗原高表达肿瘤细胞以及肿瘤组织中抗原低表达或抗原不表达的肿瘤细胞。

综上，本披露 ADC 具有重大的临床价值。

附图说明

图 1a. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物的种属交叉反应

图 1b.抗 VEGF 抗体的种属交叉反应

图 2. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物与 VEGF 家族蛋白交叉反应

图 3a. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 HUVEC 细胞网眼形成的影响统计图

图 3b. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 HUVEC 细胞交叉点形成的影响统计图

图 3c. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 HUVEC 细胞管腔形成影响的荧光图

图 4. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 SW480 移植瘤模型药效测试

图 5. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 SW480 移植瘤模型体重测试

图 6. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 NCI-H358 移植瘤模型药效测试

图 7. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 NCI-H358 移植瘤模型体重测试

图 8. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对人结直肠癌 PDX 模型体重测试

图 9. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对人结直肠癌 PDX 移植瘤模型体重测试

具体实施方式

以下通过具体实施方式的描述对本披露作进一步说明，但这并非是对本披露的限制。本领域技术人员根据本披露的教导，可以做出各种修改或改进，而不脱离本披露的基本思想和范围。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。若无另外说明，实施例中提及的溶液为在水中的溶液。若无另外说明，本文使用的缩写通常具有本领域公知的含义。

实施例 1、抗 VEGF 抗体的制备

贝伐珠单抗(Bevacizumab，商品名 **Avastin**)是 2004 年 2 月 26 日于美国上市的 VEGF 抑制剂，用于治疗如肺癌、卵巢癌等多种肿瘤，WO9845331 公开了其序列和制备方法，同时该鼠源抗体及其人源化抗体 rhuMab-VEGF (即 Bevacizumab)的序列及其制备方法已在专利号为 US6,054,297 的美国专利(发明人：Carter;PaulJ.及 Presta;LeonardG，专利申请日期：May 9，1995，专利授权日期：2000 年 4 月 25 日，专利名称：Humanized antibodies and methods for making them)公开并在 Cancer Res 杂志上发表(PrestaLG 等 Cancer Res，1997，57:4593)。在 CN109053895B 中也公开 Bevacizumab 或其生物类似物的序列和制备方法。

Bevacizumab 或其生物类似物的重链序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADF
KRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGTLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS
SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID
NO:1）

Bevacizumab 或其生物类似物的轻链序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC（SEQ ID NO:2）

通过本领域技术人员所熟知的技术手段，通过分析获得 Bevacizumab 的 CDR 区、VH、VL 的氨

基酸序列，结果如下：

重链可变区 VH 的氨基酸序如 SEQ ID NO:3 所示，

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADF KRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAK（SEQ ID NO:3）

轻链可变区 VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示，

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVP（SEQ ID NO:4）

其重链可变区的 3 个 CDR 区的氨基酸序列如下：

	定义方案	序列	SEQ ID No
CDR-H1	Chothia	GYTFTNY	5
	AbM	GYTFTNYGMN	6
	Kabat	NYGMN	7
	Contact	TNYGMN	8
	IMGT	GYTFTNYG	9
CDR-H2	Chothia	NTYTGE	10
	AbM	WINTYTGEPT	11
	Kabat	WINTYTGEPTYAADFKR	12
	Contact	WVGWINTYTGEPT	13
	IMGT	INTYTGEPT	14
CDR-H3	Chothia	YPHYYGSSHWYFDV	17
	AbM	YPHYYGSSHWYFDV	17
	Kabat	YPHYYGSSHWYFDV	17
	Contact	AKYPHYYGSSHWYFD	15
	IMGT	AKYPHYYGSSHWYFDV	16

其轻链可变区的 3 个 CDR 区的氨基酸序列如下：

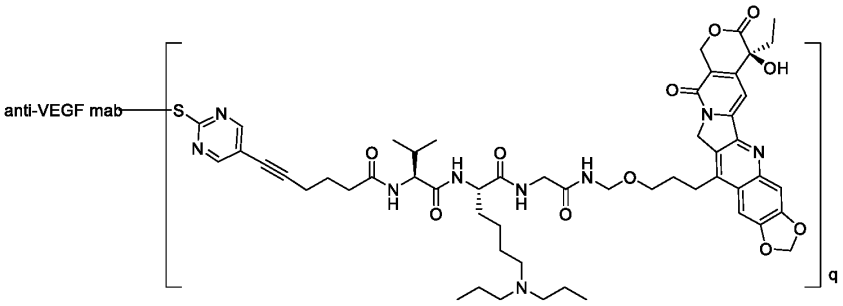
	定义方案	序列	SEQ ID No
CDR-L1	Chothia	SASQDISNYLN	23
	AbM	SASQDISNYLN	23
	Kabat	SASQDISNYLN	23
	Contact	SNYLNWY	24
	IMGT	QDISNY	20
CDR-L2	Chothia	FTSSLHS	19
	AbM	FTSSLHS	19
	Kabat	FTSSLHS	19
	Contact	VLIYFTSSLH	25
	IMGT	FTS	18
CDR-L3	Chothia	QQYSTVPWT	22
	AbM	QQYSTVPWT	22
	Kabat	QQYSTVPWT	22
	Contact	QQYSTVPW	21

	IMGT	QQYSTVPWT	22

还制备了 IgG1 同型抗体，其为人抗鸡蛋溶酶体抗体(human anti-Hen Egg Lysozyme IgG，anti-HEL，如 human IgG1，简称 hIgG1)，其序列来自于 Acierno 等人发表的 Affinity maturation increases the stability and plasticity of the Fv domain of anti-protein antibodies 研究中 Fab F10.6.6 序列的可变区序列(Acierno 等人.J Mol Biol.2007；374(1):130-46.)。制备方法如下：委托南京金斯瑞生物对 human IgG 抗体的重轻链基因进行氨基酸的密码子优化和基因合成，参照《分子克隆实验指南(第三版)》介绍的标准技术，采用 PCR、酶切、DNA 胶回收、连接转化、菌落 PCR 或酶切鉴定等标准的分子克隆技术将重轻链基因分别亚克隆到哺乳动物表达系统的抗体重链表达载体和抗体轻链表达载体，并进一步对重组表达载体的重轻链基因进行测序分析。测序验证正确后，大量制备去内毒素级别的表达质粒并将重轻链表达质粒瞬时共转染 HEK293 细胞进行重组抗体的表达。培养 7 天后收集细胞培养液，进行 rProtein A 柱(GE)亲和纯化，收获的抗体样 品用 SDS-PAGE 和 SEC-HPLC 标准分析技术对其进行质量鉴定。

实施例 2、ADC 制备

VEGF-ADC-01 的制备



q 选自 1-10 任意整数，anti-VEGF mab 为特异性结合 VEGF 的单克隆抗体。

2.1 VEGF-ADC-01(DAR8)样品制备

将实施例 1 制备的抗 VEGF 抗体 1000 mg 用稀释液(20 mM 磷酸(PB)缓冲液，pH 7.2)稀释，加入终浓度为 5mM 的依地酸钠溶液，混匀；加入抗体 6.25 倍摩尔当量的 20mmol/L 的 TCEP 溶液，混匀，室温放置 90 分钟；向上述溶液体系加入抗体 11 倍摩尔当量的 10mmol/L 的溶解于二甲基亚砜中的 DL-037(参照 WO2022170971 实施例 2.37 获得,其 CAS 号为：CAS: 2964513-44-6)，混匀，室温静置 2 小时，得到偶联后样品，反应结束后使用 30KDa 的超滤管将样品置换到 pH 为 6.0 的 20mM 组氨酸缓冲液中并去除低分子物质，最后将样品浓缩以获得含有抗 VEGF 抗体 ADC 组合物的溶液 VEGF-ADC-01(DAR8)。根据实施例 3 的质谱法测定平均 DAR 值为 8.1。

根据质谱法测定的 VEGF-ADC-01(DAR8)上抗体轻链偶联 0~1 个毒素分子(参照 WO2022170971 实施例 A1.9 获得，其 CAS 号为 2821768-98-1)(LC0、LC1 比例分别为 0%、100%)、重链偶联 0~4 个毒素分子(HC0、HC1、HC2、HC3、HC4 的比例分别为 0%、0%、0%、97%、3%)，可推知 q 值可为 8、9 或 10。

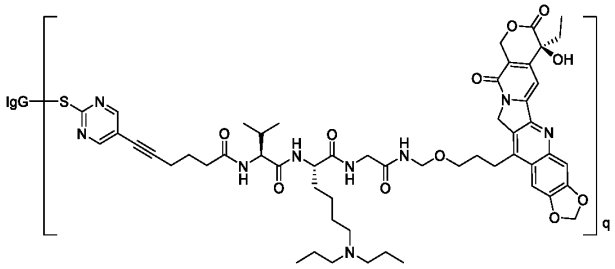
2.2 VEGF-ADC-01(DAR4)样品制备

将实施例 1 制备的抗 VEGF 抗体 1000 mg 用稀释液(20 mM PB, pH 7.2)稀释，加入终浓度为 5mM 的依地酸钠溶液，混匀；加入抗体 2.8 倍摩尔当量的 20mmol/L 的 TCEP 溶液，混匀，室温放置 90 分钟；向上述溶液体系加入抗体 4.8 倍摩尔当量的 10mmol/L 的溶解于二甲基亚砜中的 DL-037(参照

WO2022170971 实施例 2.37 获得)，混匀，室温静置 2 小时，得到偶联后样品，反应结束后使用 30KDa 的超滤管将样品置换到 pH 为 6.0 的 20mM 组氨酸缓冲液中并去除低分子物质，最后将样品浓缩以获得含有抗 VEGF 抗体 ADC 组合物的溶液 VEGF-ADC-01(DAR4)。质谱法测定平均 DAR 值为 4.5。

质谱法测定的 VEGF-ADC-01(DAR4)上抗体轻链偶联 0~1 个毒素分子(LC0、LC1 比例分别为 48%、52%)、重链偶联 0~4 个毒素分子(HC0、HC1、HC2、HC3、HC4 的比例分别为 22%、16%、30%、32%、0%)，可推知 q 值可为 1、2、3、4、5、6、7 或 8。

2.3 IgG1-ADC 的制备



2.3.1 IgG1-ADC (DAR8)的制备

用 IgG1 同型抗体(抗鸡融菌酶抗体，实施例 1 制备)代替实施例 2.1 制备方法的抗体，得到 DL-037 与 IgG1 抗体的偶联产物 IgG1-ADC。根据实施例 3 的质谱法测定 DAR 值为 8.0。

2.3.2 IgG1-ADC (DAR4)的制备

用 IgG1 同型抗体(抗鸡融菌酶抗体，实施例 1 制备)代替实施例 2.2 制备方法的抗体，得到 DL-037 与 IgG1 抗体的偶联产物 IgG1-ADC。根据实施例 3 的质谱法测定 DAR 值为 4.4。

实施例 3、抗 VEGF ADC 制备的鉴定

检测：对 VEGF-ADC-01(DRA4)和 VEGF-ADC-01(DAR8)进行 LC-MS 分子量和 DAR 值分析，色谱条件如下：

色谱柱：PLRP-S, 2.1*50mm, 5μm；

流动相 A：0.1%FA /H_2O; 流动相 B：0.1%FA/ACN

柱温：70℃

流速：0.3 ml/min

进样量：1 μl

时间(min)	0.0	1.0	6.0	6.5	8.0	8.1	10.0
流动相 A	80	80	30	5	5	80	80
流动相 B	20	20	70	95	95	20	20

样品处理：分别取样品 200 μg，加入超纯水稀释至 0.2mg/ml，加入 10μl 1mol/L DTT，37℃反应 30min 后直接进样。

LC/MS 型号：AB SCIEX X500B

质谱条件如下：

Ion Source Gas 1 (Gas1):45	Ion Source Gas 2 (Gas2):45
Curtain Gas (CUR):30	Temperature (TEM):450
IonSpray Voltage Floating (ISVF):5000	Declustering Potential (DP):120
Collision Energy (CE):12	Time bins to sum: 80
Accumulation time: 1 secs	TOF Mass: 600-4000

结果如下所示：

表 1. 理论分子量及实测分子量

肽链	LC0	LC1	HC0	HC1	HC2	HC3	HC4
理论值(Da)	23451.03	24469.03	51164.52	52182.52	53200.52	54218.52	55236.52
实测值(Da)	23446.64	24464.93	51156.52	52174.73	53192.88	54211.27	55229.68

表 1 中，LC0 代表未偶联毒素的抗体轻链；LC1 代表偶联 1 个毒素的抗体轻链；HC0 代表未偶联毒素的抗体重链，HC1、HC2、HC3、HC4 分别代表偶联 1、2、3、4 个毒素的抗体重链。LC0、HC0 理论分子量以氨基酸序列进行计算，其中，HC 理论分子量以 G0F 糖型脱 K 计算。

表 2. 各部分的比例及 DAR 值

样品	比例(%)							测定 DAR 值
	LC0	LC1	HC0	HC1	HC2	HC3	HC4	
VEGF-ADC-01(DAR4)	48	52	22	16	30	32	未检出	4.5
VEGF-ADC-01(DAR8)	未检出	100	未检出	未检出	未检出	97	3	8.1

检测结果显示，VEGF-ADC-01(DAR4)样品的药物抗体偶联比(DAR 值)为 4.5；VEGF-ADC-01(DAR8)样品的药物抗体偶联比(DAR 值)为 8.1。

实施例 4、VEGF ADC 蛋白亲和力检测

通过 ELISA 实验方法检测如实施例 1 所述制备的抗 VEGF 抗体和如实施例 2 所述制备的 VEGF-ADC-01(DAR4)与各种属 VEGF 蛋白的亲和力。具体实验操作：将人/猴 VEGF 蛋白(VEGF165，P15692，源自思柏沃)、大鼠 VEGF 蛋白(VEGF164，购自近岸蛋白，货号 CJ96)和小鼠 VEGF 蛋白(VEGF164，购自近岸蛋白，货号 CX73)用 pH 值为 9.6 的碳酸盐缓冲液稀释至终浓度为 1 μg/mL，按 100 μL/孔分别加入 96 孔酶标孔中，4℃包被过夜；弃包被液，PBST 洗涤 3 次，每孔加入 300 μL PBS (含 2% BSA)，37℃封闭 1 小时；然后每孔加入 100 μL PBS (含 2%BSA)稀释的抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4) (1000 ng/mL 起始，4 倍稀释，2 复孔)，37℃，孵育 1.5h；PBST 洗涤 3 次，加入辣根过氧化物酶标记的抗人 Fab 抗体(Invitrogen，A56868，用含 2%BSA 的 PBS 按 1:2000 稀释)，100 μL/孔，37℃作用 1 小时；PBST 洗板 5 次。加入 TMB 显色液显色(100 μL/孔，37℃，7min)，加入终止液终止反应(50 μL/孔)，于 450 nm 下测吸光度。根据原始数据计算 EC50 值。结果如表 3 和图 1a、1b 所示，抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4)与人/猴 VEGF 蛋白有强的结合，与大鼠和小鼠 VEGF 蛋白不结合，且 VAGF ADC 与不同种属 VEGF 抗原结合能力与抗 VEGF 抗体相似。

表 3. 抗 VEGF 抗体和 VEGF ADC 种属交叉反应

样品	人/猴 VEGF EC50 (nM)	大鼠 VEGF EC50 (nM)	小鼠 VEGF EC50 (nM)
抗 VEGF 抗体	0.069	NA	NA
VEGF-ADC-01(DAR4)	0.046	NA	NA

实施例 5、VEGF ADC 动态亲和力检测

通过表面等离子共振技术检测如实施例 1 所述制备的抗 VEGF 抗体和如实施例 2 所述制备的 VEGF-ADC-01(DAR4)与人 VEGF 蛋白的动态亲和力。简述方法如下：将人 VEGF 蛋白(百普赛斯，VE5-H4210：亚型 VEGF165)脱盐并用 HEPES 缓冲液进行置换，SPECTROstarNano (购自 BMGLABTECH)进行浓度测定后，用 HEPES 缓冲液进行系列稀释(起始浓度为 62.5 nM，2 倍稀释，共 7 个浓度)。将抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4)用 HEPES 缓冲液稀释到 6 μg/mL 并注入到

Protein A 捕获芯片实验通道(Fc2)上。将抗原稀释液依次注入到实验通道(Fc2)和参比通道(Fc1)，在HEPES 缓冲液中结合 90s，解离 210s。在一个分析循环后，传感器用 10 mM Gly (pH 1.5)再生 30s。Biacore Insight Evaluation Software 进行数据分析，用 1：1 模型分析，确定结合(Ka)和解离(Kd)速率常数并使用其来计算解离平衡常数(KD)。结果如表 4 所示，抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4)与人 VEGF 具有较高的动态亲和力。

表 4. 抗 VEGF 抗体、VEGF ADC 与 VEGF 蛋白的动态亲和力分析

Ligand	Capture Level (RU)	Analyte	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi² (RU²)
VEGF-ADC-01(DAR4)	172.0	人 VEGF	9.66E+05	1.52E-04	1.57E-10	58.3	0.50
抗 VEGF 抗体	179.7	人 VEGF	1.11E+06	6.85E-05	6.16E-11	62.4	0.64

实施例 6、VEGF ADC 特异性检测

通过 ELISA 实验方法检测如实施例 1 所述制备的抗 VEGF 抗体(Bevacizumab)和如实施例 2 所述制备的 VEGF-ADC-01(DAR4)与其他 VEGF 家族蛋白的结合特性。具体实验操作：将人 VEGFA 蛋白(VEGF165，源自思柏沃)、人 VEGF-B(购自近岸蛋白，CS78)、人 VEGF-C(购自近岸蛋白，C546)、人 VEGF-D(购自近岸蛋白，C498)、人 PLGF 蛋白(购自近岸蛋白，CW90)用 pH 值为 9.6 的碳酸盐缓冲液稀释至终浓度为 1 μg/mL，按 100 μL/孔分别加入 96 孔的酶标板中，4℃包被过夜；次日，弃包被液，PBST 洗涤 3 次，每孔加入 300 μL PBS (含 2% BSA)，37℃封闭 1.5h；1xPBST 洗板 3 次后，加入浓度为 1000 ng/mL 的待测样品（抗 VEGF 抗体或 VEGF-ADC-01(DAR4)），37°C 孵育 1 小时；PBST 洗涤 3 次后，加入辣根过氧化物酶标记的抗人 Fab 抗体(Invitrogen，A56868，用含 2% BSA 的 PBS 按 1:2000 稀释)，100 μL/孔，37℃作用 1 小时；PBST 洗板 5 次。加入 TMB 显色液(湖州英创，TMB-S-001)显色，加入终止液终止反应，于 450 nm 下酶标仪读数。结果见表 5 和图 2，抗 VEGF 抗体、VEGF-ADC-01(DAR4)显著与 VEGFA 结合，与 VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 和 PLGF 均不结合。

表 5. 抗 VEGF 抗体、VEGF ADC 特异性检测结果

样品	人 VEGF-A OD 值	人 VEGF-B OD 值	人 VEGF-C OD 值	人 VEGF-D OD 值	人 PLGF OD 值
抗 VEGF 抗体	1.360	0.067	0.071	0.058	0.071
VEGF-ADC-01(DAR4)	1.115	0.070	0.068	0.056	0.077

实施例 7、VEGF ADC 体外抗血管生成检测

通过管腔形成实验检测实施例 1 制备的抗 VEGF 抗体和实施例 2 制备的 VEGF-ADC-01(DAR4)对血管内皮细胞 HUVEC (ATCC，货号 CRL-1730)管腔形成的影响。

具体实验操作：将细胞外基质胶(Extracellular Matrix Gel) (BD,354248)提前放置 4℃解融，并预冷 96 孔板及枪尖，于每孔加入 50 μL 的基质胶，放入 37℃培养箱 30-45 分钟，待基质胶均匀凝固地铺在 96 孔底部。将处于对数生长期的 HUVEC 细胞以每孔 10000 个加入含有基质胶的 96 孔板中，50 μL/孔，随后在各实验孔中加入 3 μM/L 抗 VEGF 抗体（实施例 1 制备）、3 μM/L VEGF-ADC-01(DAR4)、12 μM/L 毒素(参照 WO2022170971 实施例 A1.9 获得)、3.35 uM/L Avastin (购自 MCE，HY-P9906)处理 HUVEC 细胞，仅加 VEGF 的实验孔作为对照。6 小时后洗掉培养基，用 100 μL 清洗液清洗 2 遍，每孔加入 100 μL 染色液在 37℃下染色 0.5h，于 4 倍镜下进行荧光拍照，Image J 软件计算管腔形成的相关指标，并用 GraphPad Prism 作图。结果如表 6 和图 3a-图 3c 所示。与对照组(VEGF)相比，Avastin、毒素、抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4)能显著抑制 HUVEC 细胞网眼、交叉点等的形成，并且管腔形成减少。综上所述，毒素、抗 VEGF 抗体和 VEGF-ADC-01(DAR4)可

显著抑制 HUVEC 细胞管腔形成的能力。

表 6.对 HUVEC 细胞管腔形成的结果统计表

组别	网眼数(Mean)	交叉点数(Mean)
VEGF，100 ng/mL	34	72
VEGF+ Avastin，100ng/mL+3.35μM	12	34
VEGF+毒素，100ng/mL+12μM	3	14
VEGF+抗 VEGF 抗体，100ng/mL+3μM	16	37
VEGF+VEGF-ADC-01(DAR4)，100ng/mL+3μM	12	33

实施例 8、VEGF ADC 的细胞功能活性

VEGF ADC 由于不依赖于细胞的特异性内吞作用，而是通过肿瘤微环境中酶的作用被切割释放毒素发挥杀伤作用。因此本试验通过体外模型模拟肿瘤微环境对 VEGF ADC 的切割过程，并评估其对细胞的杀伤效果。

具体实验操作：将 200 μg/mL VEGF-ADC-01(DAR4)与 50 μg/mL Cathepsin L (百普赛斯，货号 CAL-H5253)在 37℃孵育 72h，得到 VEGF ADC 酶孵育液。NCI-H358 (人非小细胞肺癌细胞，来源 ECACC，货号 95111733)、SW480 (人结肠癌细胞，来源 ECACC，货号 87092801)、SNU-16 (人胃癌细胞，来源 ATCC，货号 CRL-5974)、NCI-H441 (人肺腺癌细胞，来源 ATCC，货号 HTB-174)细胞在 37℃, 5% CO_2 条件下培养，收获处于对数生长期的细胞并进行计数，用台盼蓝染色法检测细胞活力，确保细胞活力在 90%以上。调整细胞密度，随后接种于 96 孔细胞培养板中，每孔接种 120 μL，NCI-H358、SW480、SNU-16、NCI-H441 每孔接种数量分别为 4000、6000、6000、2000 个细胞。将培养板置于培养箱中培养过夜。第二天，配制样品溶液，各细胞系工作浓度最高为 260 nM，4 倍梯度稀释，共 9 个浓度，每个浓度设置 3 个复孔，30 μL/孔样品工作液加入到 96 孔板中。将已加样品的 96 孔板置于培养箱中继续培养 6 天，之后进行细胞活性分析。融化 CellTiter Glo 试剂(来自 Promega，货号 G7573)并平衡细胞板至室温 30 分钟，每孔加入 75 μL 的 CellTiter Glo 试剂，在定轨摇床上振动 2 分钟使细胞裂解，然后将细胞板放置于室温 10 分钟以稳定冷光信号，最后读取冷光值，收集数据。具体结果见表 7，表明本披露的 VEGF ADC 经过 Cathepsin L 孵育后释放的活性成分对肿瘤细胞具有显著的杀伤作用。

表 7. VEGF ADC 酶孵育液细胞杀伤活性检测结果

样品	NCI-H358 IC50 (nM)	SW480 IC50 (nM)	SNU-16 IC50 (nM)	NCI-H441 IC50 (nM)
VEGF-ADC-01(DAR4)+酶孵育液	1.78	2.82	1.85	0.21
VEGF-ADC-01(DAR4)	NA	NA	NA	NA
毒素	4.08	4.96	7.68	0.13

NA 表示 IC50 数值过高而未获取（Not Available）。

实施例 9、VEGF ADC 体内活性的测定

9.1. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 SW480 移植瘤药效测试

本披露通过评价抗 VEGF 抗体和 ADC 药物对 Balb/c Nude 小鼠皮下人结肠癌细胞株 SW480 细胞(ATCC 来源)移植瘤模型的抗肿瘤作用来展示体内药效。具体步骤如下：35 只 Balb/c nu 裸小鼠，雌性，5-6 周龄，购自成都药康生物科技有限公司。SW480 细胞用含 10% FBS 的 1640 培养基培养于 15 cm 直径培养皿，达 80-90%左右融合度时用胰蛋白酶-EDTA 消化，用 PBS 洗两次，然后离心重悬于预冷 PBS 中，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 5×10^7/ml。Balb/c nu 小鼠实验室环境适应

3-5 天，于右肋部皮下接种 SW480 细胞，接种细胞量为 5×10^6/只，接种体积为 0.2 ml (含 50 % Matrigel)，待肿瘤生长至 180 mm^3 左右时，根据肿瘤大小随机分组，每组 5 只，分别为生理盐水组(Vehicle (Saline))、抗 VEGF 抗体组、抗鸡溶菌酶人 IgG1-ADC(DAR8) (实施例 2 制备)组、VEGF-ADC-01(DAR4)剂量组以及 VEGF-ADC-01(DAR8)剂量组。所有样品均为尾静脉注射，每周 1 次，共给药 3 周。给药后观察并定期测量小鼠肿瘤体积及体重。

1) 相对肿瘤增殖率，T/C(%)，即在某一时间点，治疗组和对照组相对肿瘤体积或瘤重百分比值。

2) 相对肿瘤抑制率，TGI(%)，计算公式为：TGI% = (1-T/C) × 100% (T 和 C 分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积(RTV))。

具体结果见表 8 及图 4。由实验结果可知，所有剂量组均对 SW480 人结肠癌移植瘤模型的肿瘤生长有抑制作用，并且 VEGF-ADC-01(DAR4)和 VEGF-ADC-01(DAR8)在各个剂量组均展示出良好的肿瘤生长抑制作用，并且呈现剂量梯度趋势。体重结果见图 5，提示具有良好的安全性。

表 8. SW480+ Balb/c Nude 小鼠模型药效结果

分组	平均肿瘤体积(mm^3)	平均肿瘤体积(mm^3, Mean±SD)	T/C (%)	抑瘤率 TGI (%)	*P* 值 D29**
	D1	D29	D29	D29	
生理盐水	146.16±11.93	2884.96±1282.34*	-	-	-
IgG1-ADC(DAR8), 10mg/kg	144.66±14.70	1261.82±931.35	44.19	55.8	0.113
抗 VEGF 抗体, 5mg/kg	145.96±11.63	2291.48±363.40	79.54	20.5	1.000
VEGF-ADC-01(DAR8) 5mg/kg	144.77±12.69	796.22±997.50	27.86	72.1	0.014
VEGF-ADC-01(DAR8) 10mg/kg	145.43±12.39	94.67±40.45###	3.30	96.7	0.000
VEGF-ADC-01(DAR4) 10mg/kg	146.00±12.11	536.66±269.85	18.62	81.4	0.012
VEGF-ADC-01(DAR4) 20mg/kg	144.75±14.68	194.57±175.16##	6.81	93.2	0.000

*：因对照组肿瘤生长过快，根据动物伦理福利要求提前解剖，体积为解剖当天(D19)瘤体积。

**：采用 Dunnett's test，各给药组与生理盐水对照组进行统计学分析。

与 IgG1-ADC(DAR8)组比较，##表示 $p<0.01$，###表示 $p<0.001$，$p<0.05$ 即认为具有显著性差异。

9.2. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 NCI-H358 移植瘤药效测试

本披露通过评价抗 VEGF 抗体和 ADC 药物对 Balb/c Nude 小鼠皮下人非小细胞肺癌细胞株 NCI-H358 细胞(南京科佰生物)移植瘤模型的抗肿瘤作用来展示体内药效。具体步骤如下：56 只 Balb/c nu 裸小鼠，雌性，5-6 周龄，购自成都药康生物科技有限公司。NCI-H358 细胞用含 10% FBS 的 1640 培养基培养于 15 cm 直径培养皿，达 80-90 %左右融合度时用胰蛋白酶-EDTA 消化，用 PBS 洗两次，然后离心重悬于预冷 PBS 中，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 5×10^7/ml。Balb/c nu 小鼠实验室环境适应 3-5 天，于右肋部皮下接种 NCI-H358 细胞，接种细胞量为 5×10^6/只，接种体积为 0.2ml (含 50 % Matrigel)，待肿瘤生长至 180 mm^3 左右时，根据肿瘤大小随机分组，每组 5 只，分别为生理盐水组、抗 VEGF 抗体组、毒素(参照 WO2022170971 实施例 A1.9 获得)组、抗鸡溶菌酶人 IgG1-ADC(DAR4) (实施例 2 制备)组、VEGF-ADC-01(DAR4) 0.5 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg 剂量组。所有样品均为尾静脉注射，每周 1 次，共给药 3 周。给药后观察并定期测量小鼠肿瘤体积及体重。

1) 相对肿瘤增殖率，T/C(%)，即在某一时间点，治疗组和对照组相对肿瘤体积或瘤重百分比值。

2) 相对肿瘤抑制率，TGI(%)，计算公式为：TGI% = (1-T/C) × 100% (T 和 C 分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积(RTV))。

具体结果见表 9 及图 6。由实验结果可知，VEGF-ADC-01(DAR4)所有剂量组均对 NCI-H358 人非小细胞肺癌移植瘤模型的肿瘤生长有显著的抑制作用，并且呈现剂量梯度趋势。体重结果见图 7，提示具有良好的安全性。

表 9. NCI-H358 Balb/c Nude 小鼠模型药效结果

分组	平均肿瘤体积 (mm^3 Mean±SD)	平均肿瘤体积 (mm^3, Mean±SD)	T/C (%)	抑瘤率 TGI(%)	*P* 值 D22*
	D1	D22	D22	D22	
生理盐水	183.39±7.12	1031.45±214.47	-	-	-
抗 VEGF 抗体, 3mg/kg	182.75±15.21	902.57±375.27	87.8	12.2	0.930
毒素，0.07mg/kg	182.81±14.28	742.74±245.36	72.2	27.8	0.456
IgG1-ADC(DAR4), 3mg/kg	183.43±10.73	684.25±299.58	66.3	33.7	0.163
VEGF-ADC-01(DAR4) 0.5mg/kg	183.10±7.83	710.67±660.22	69.0	31.0	0.049
VEGF-ADC-01(DAR4) 1mg/kg	183.13±7.57	506.40±199.31	49.2	50.8	0.015
VEGF-ADC-01(DAR4) 3mg/kg	182.87±16.40	256.52±124.04##	24.9	75.1	0.000

*：采用 Dunnett's test，各给药组与生理盐水对照组进行统计学分析。

与 IgG1-ADC(DAR4)组比较，##表示 $p<0.01$，$p<0.05$ 即认为具有显著性差异。

9.3. 抗 VEGF 抗体-药物偶联物对 LD1-2012-200671 PDX 移植瘤药效测试

本披露通过评价抗 VEGF 抗体和 ADC 药物在人结直肠癌 LD1-2012-200671 (上海立迪生物技术有限公司)小鼠皮下人源异种移植瘤(Patient-Derived Xenograft, PDX)模型上的抗肿瘤作用来展示体内药效。具体步骤如下：16 只 NU/NU 小鼠，雌性，购自浙江维通利华实验动物技术有限公司。将人结直肠癌 LD1-2012-200671 肿瘤组织均匀切成大小约 3 mm × 3 mm × 3 mm、重量约 30-60 mg 的肿瘤块并接种于 NU/NU 小鼠右侧皮下，待肿瘤生长至 157 mm^3 左右时，根据肿瘤大小随机分组，每组 4 只，分别为生理盐水组(Vehicle)、抗鸡溶菌酶人 IgG1-ADC(DAR4) (实施例 2 制备)组、抗 VEGF 抗体组以及 VEGF-ADC-01(DAR4)剂量组。所有样品均为尾静脉注射，每周 1 次，共给药 3 周。给药后观察并定期测量小鼠肿瘤体积及体重。

1) 相对肿瘤增殖率，T/C(%)，即在某一时间点，治疗组和对照组相对肿瘤体积或瘤重百分比值。

2) 相对肿瘤抑制率，TGI(%)，计算公式为：TGI% = (1-T/C) × 100% (T 和 C 分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积(RTV))。

具体结果见表 10 及图 8。由实验结果可知，ADC 剂量组均能够抑制 LD1-2012-200671 小鼠皮下结肠癌 PDX 模型的肿瘤生长，并且 VEGF-ADC-01(DAR4)展现出比 IgG1-ADC(DAR4))和抗 VEGF 抗体更加优异的抑制效果。体重结果见图 9，提示具有良好的安全性。

表 10. LD1-2012-200671 PDX 小鼠模型药效结果

分组	平均肿瘤体积 (mm^3 Mean±SEM)	平均肿瘤体积 (mm^3 Mean±SEM)	T/C (%)	抑瘤率 TGI(%)	*P* 值 D21*
	D0	D21	D21	D21	
生理盐水(Vehicle)	156.12±2.95	1262.74±117.63	-	-	-
IgG1-ADC(DAR4), 5mg/kg	156.45±3.68	735.18±164.23	58.10	41.90	0.040
抗 VEGF 抗体, 5mg/kg	157.85±5.21	665.61±127.23	52.13	47.87	0.014
VEGF-ADC-01(DAR4), 5mg/kg	157.12±4.64	41.85±7.16##	3.29	96.71	<0.0001

**：采用 One-Way ANOVA Uncorrected Fisher's LSD test，各给药组与生理盐水对照组进行统计学分析。

与 IgG1-ADC(DAR4)组比较，##表示 $p<0.01$，$p<0.05$ 即认为具有显著性差异。

实施例 10、ADC 血浆稳定性测试

溶液配制：用 PBS 将待测试 ADC 原液稀释至浓度 2 mg/mL 的工作溶液。

样品孵育：向 VEGF-ADC-01 工作溶液和人血浆中各自加入抑菌剂 ProClin，ProClin 终浓度为 0.1%，无菌操作。将加入了抑菌剂的 ADC 溶液以 ADC 终浓度 200ug/ml 加入上述无菌血浆中，置于

37℃细胞培养箱中孵育，震荡速度 80 次/分钟。孵育 0 天、7 天、14 天，取出 ADC 样品，每管加入 100ul 的 ProteinA，吸附 2h，洗脱，获得孵育后的 ADC。对孵育后的 ADC 进行 DAR 值检测（检测及计算方法同实施例 3），判定样品的血浆稳定性。

测试结果表明，本披露的 VEGF-ADC-01(DAR4)和 VEGF-ADC-01(DAR8)在血浆孵育过程中 DAR 值基本保持稳定（即几乎没有毒素 linker 从抗体上脱落），具有良好的血浆稳定性。

实施例 11、ADC 毒性测试

本披露通过静脉输注给予食蟹猴不同剂量的 VEGF-ADC-01(DAR4)，重复给药 4 周，停药恢复 4 周，观察其毒性反应及其可逆程度，判断毒性靶器官或靶组织。具体步骤如下：选取食蟹猴，雄雌各半，静脉输注给予溶媒(葡萄糖溶液)对照或不同剂量的 VEGF-ADC-01(DAR4)，每 2 周给药 1 次，共给药 3 次，停药恢复 4 周。分别于给药期末和恢复期末安乐死并解剖所有存活动物。评价指标包括临床观察、体重、摄食、体温、眼科检查、临床病理、大体解剖肉眼观察、脏器重量和组织病理学检查等。

结果表明，在本试验条件下，VEGF-ADC-01(DAR4)在食蟹猴中的最高非严重毒性反应剂量（HNSTD）为 30 mg/kg，本实验中未观察到严重毒性反应，仅有较轻毒性反应，停药后均可恢复。

尽管本披露的具体实施方式已经得到详细的描述，但本领域技术人员将理解：根据已经公布的所有教导，可以对细节进行各种修改和变动，并且这些改变均在本披露的保护范围之内。本披露的保护范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权利要求

1. 一种抗体药物偶联物，其为式(I)化合物，或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物：

Ab-[L-D]q

式(I)

其中，

Ab 为特异性结合血管内皮生长因子(VEGF)的抗体或其抗原结合片段；

L 是键或连接分子，其共价连接 Ab 和 D；

q 是 1-16 之间的整数，且表示共价连接至 Ab 的 L-D 的数目；优选地，q 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

D 为喜树碱类药物分子。

2. 权利要求 1 所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、Contact 定义方案或其任意组合进行定义；

可选地，所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含：

SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Chothia 方案进行定义，

SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 AbM 方案进行定义，

SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Kabat 方案进行定义，

SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 IMGT 方案进行定义，或

SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Contact 方案进行定义；

优选地，所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段包含 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、或 Contact 定义方案中的 CDR-H1，CDR-H2，CDR-H3，CDR-L1，CDR-L2，CDR-L3，其中

(i) 根据 Chothia 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；和

CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列;

(ii) 根据 AbM 方案定义，

CDR-H1 包含 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列；

CDR-H2 包含 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列；

CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；

CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列；

CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；和
CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列
(iii) 根据 Kabat 方案定义，
CDR-H1 包含 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列；
CDR-H2 包含 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列；
CDR-H3 包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；
CDR-L1 包含 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列；
CDR-L2 包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；和
CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列；
(iv) 根据 Contact 方案定义，
CDR-H1 包含 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列；
CDR-H2 包含 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列；
CDR-H3 包含 SEQ ID NO:15 所示的氨基酸序列；
CDR-L1 包含 SEQ ID NO:24 所示的氨基酸序列；
CDR-L2 包含 SEQ ID NO:25 所示的氨基酸序列；和
CDR-L3 包含 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列；
(v). 根据 IMGT 方案定义，
CDR-H1 包含 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列；
CDR-H2 包含 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列；
CDR-H3 包含 SEQ ID NO:16 所示的氨基酸序列；
CDR-L1 包含 SEQ ID NO:20 所示的氨基酸序列；
CDR-L2 包含 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列；和
CDR-L3 包含 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列；
(vi) 根据 Chothia 方案定义，
CDR-H1 由 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H2 由 SEQ ID NO:10 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成；和
CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成；
(vii). 根据 AbM 方案定义，
CDR-H1 由 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H2 由 SEQ ID NO:11 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成；和
CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成
(viii). 根据 Kabat 方案定义，
CDR-H1 由 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H2 由 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列组成；
CDR-H3 由 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L1 由 SEQ ID NO:23 所示的氨基酸序列组成；
CDR-L2 由 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列组成；和
CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成；

(ix). 根据 Contact 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:15 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:24 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:25 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列组成；

(x). 根据 IMGT 方案定义，

CDR-H1 由 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H2 由 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列组成；

CDR-H3 由 SEQ ID NO:16 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L1 由 SEQ ID NO:20 所示的氨基酸序列组成；

CDR-L2 由 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列组成；和

CDR-L3 由 SEQ ID NO:22 所示的氨基酸序列组成。

3. 权利要求 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中 Ab 包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)，其中

(i) 所述重链可变区包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列；或者

(ii) 所述重链可变区由 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列组成，和所述轻链可变区由 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列组成；

(iii)所述重链可变区包含与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列；或

(iv) 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO:3 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和包含所述轻链可变区与 SEQ ID NO:4 相比具有至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列。

4. 权利要求 1-3 任一所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中 Ab 包含重链和轻链，其中

(i) 所述重链包含 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列；

(ii) 所述重链由 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列组成，和所述轻链由 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列组成；

(iii)所述重链包含与 SEQ ID NO:1 相比具有至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO:2 相比具有 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列；或者

(iv) 所述重链包含与 SEQ ID NO:1 相比至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列，和包含所述轻链与 SEQ ID NO:2 相比具有至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100%序列同一性的氨基酸序列；

优选地，Ab 选自 Bevacizumab 或其生物类似物或其抗原结合片段；

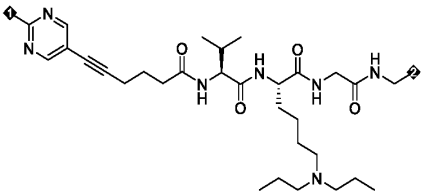
优选地，Ab 选自选自以下任一 Bevacizumab 的生物类似物或其抗原结合片段：ABP 215，BCD-021，FKB238，Mvasi (Bevacizumab-awwb)，PF-06439535，SB8，Zirabev (Bevacizumab-bvzr)，QL1101，

IBI305，SHR-1603，BAT1706，HS008，MIL60 或其抗原结合片段。

5. 权利要求 1-4 任一所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中 L 包含氨基酸残基或由 2-10 个氨基酸残基组成的短肽；

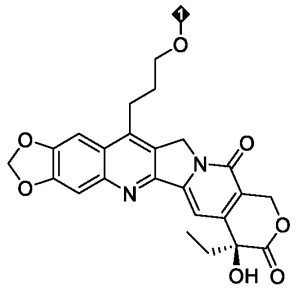
优选地，L 包含能在肿瘤微环境裂解的氨基酸残基或由 2-10 个氨基酸残基组成的短肽；

可选地，L 中氨基酸残基为天然氨基酸残基或其修饰；

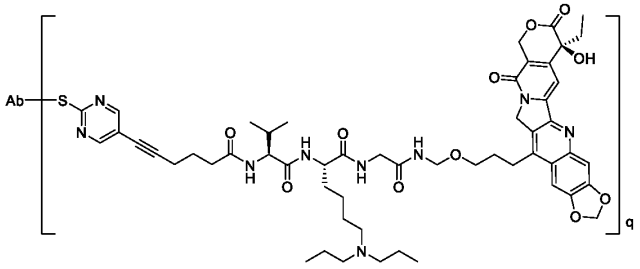
优选地，L 选自  ，其中 1 位于 Ab 连接，2 位与 D 连接。

6. 权利要求 1-5 任一所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中 D 选自喜树碱、SN38、DXD、取代基被修饰的喜树碱、取代基被修饰的 DXD 或取代基被修饰的 SN38；

或者，D 选自：

 ，其中 1 位与 L 连接。

7. 权利要求 1-6 任一所述的抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，其中式(I)化合物选自：



其中，q 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

优选地，所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段 Ab 包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)序列的三个 CDR-H 和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)序列的三个 CDR-L，其中，所述 CDR 根据 Chothia、AbM、Kabat、IMGT、Contact 方案或其任意组合进行定义；

更优选地，所述特异性结合 VEGF 的抗体或其抗原结合片段 Ab 包含：SEQ ID NO:3 的重链可变区(VH)和 SEQ ID NO:4 的轻链可变区(VL)，进一步优选地，Ab 选自 Bevacizumab 或其抗原结合

片段，或其生物类似物。

8. 一种抗体药物偶联物的群，其包含权利要求 1-7 任一所述的抗体-药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物或由其组成，其中所述的抗体药物偶联物具有一种、两种或更多种 q 值；

可选地，所述抗体药物偶联物群的抗体药物偶联物具有两种或更多种 q 值时，其中一个特定 q 值的抗体药物偶联物中占组合物中所有抗体药物偶联物的比例大于 50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%；

可选地，所述抗体药物偶联物群的平均药物与抗体的比例(平均 DAR)选自 1.5-2.5、3.5-4.5、5.5-6.5 或 7.5-8.5；

优选地，所述抗体药物偶联物群的平均药物与抗体的比例(平均 DAR)选自约 2.0、4.0、6.0 或 8.0。

9. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-7 任一所述抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物，或权利要求 8 的抗体药物偶联物的群，以及任选的一种或多种药用辅料，如药用载体、药用赋形剂，包括缓冲剂；

可选地，所述药物组合物或抗体药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均 DAR)选自 1-10 中的整数或小数；

优选地，所述药物组合物或抗体药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均 DAR)选自 1.5-2.5、3.5-4.5、5.5-6.5 和 7.5-8.5；

优选地，所述药物组合物或抗体药物偶联物群中的 DAR 选自：2±0.5，4±0.5，5±0.5，6±0.5，7±0.5，和 8±0.5；

优选地，所述药物组合物或抗体药物偶联物群中药物与抗体的比例(平均 DAR)选自约 2.0、4.0、6.0 和 8.0。

10. 权利要求 1-7 任一所述抗体药物偶联物或其互变异构体、立体异构体、同位素衍生物(如氘代衍生物)或药学上可接受的盐或溶剂合物、权利要求 8 的抗体药物偶联物的群或权利要求 9 所述的药物组合物的用途，用作药物或用于制备药物，所述药物用于治疗或预防与 VEGF 的活性有关的疾病或与 VEGF 的靶点相关的疾病，包括肿瘤，例如癌症，例如实体肿瘤或血液肿瘤；

任选地，所述肿瘤选自肺癌(例如非小细胞肺癌、肺腺癌)、结肠癌(例如人结肠腺癌)、直肠癌、胃癌、结直肠癌(如结直肠腺癌)。